

2. Затейщикова А.А., Затейщиков Д.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение // Кардиология. -1998. -№9. -С.68-80.
3. Чайковская Н.А., Фомин К.А. Спектрофотометрический метод определения оксида азота в крови и тканях // IV-съезд Бел. общества фотобиол. и биофизиков «Молекулярно-клеточн. основы функционирования биосистем». – Минск. - 2000. -С.330.
4. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // Lancet. -1992. -V.340. -P.1111-1115.
5. Januszewicz A., Szmigielski C., Lon I. Endokrynnna rola śródbłónka w patogenezie nadciśnienia tętniczego // Kardiolog. Pol. -1998. -V.48. -P.72-75.
6. Jungersten L., Edlund A., Petersson A.S., Wennmalm A. Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man: analyses of kinetics and confounding factors // Clin. Physiol. -1996. -V.16. -P.369-379.
7. Vanhoult P.M. Endothelial dysfunction and atherosclerosis // European Heart J. -1997. -V.18. -Suppl.E. -P. E19-E29.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ЛИМФОЦИТОВ, УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ И РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ (рМКА) КАК МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ УКАЗЫВАЕТ НА ИХ ВОЗМОЖНУЮ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Тепляков А.И.

*НИИ экологической и профессиональной патологии МЗ РБ,
г. Могилев,*

Введение

Согласно результатам исследований изменений уровней рМКА и цитокинов предположено, что нарушение межклеточных взаимодействий играет ключевую роль в патогенезе атеросклероза [1,2]. В то же время, обнаруженное повышение уровней основных провоспалительных цитокинов и некоторых рМКА явились серьезным подтверждением дисфункции эндотелия и развития воспалительных реакций сосудистой стенки у пациентов с атеросклерозом [3]. Роль клеточного звена иммунной системы в развитии воспалительных реакций сосудистой стенки не вызывает сомнений, а уточнение роли координационных процессов в патогенезе атеросклероза и явилось целью настоящего исследования.

Цель исследования: для уточнения роли лимфоцитов в регуляции основных цитокиновых программ, нами предпринят сравнительный анализ секреции рМКА, цитокинов и соответствующих изменений интерфазного хроматина ядер лимфоцитов.

Материалы и методы исследований

Объектом настоящего исследования явились образцы венозной крови 16 пациентов с атеросклерозом коронарных и церебральных артерий.

Нами оценена динамика следующих цитокинов (IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, ET-1) и рМКА (Е-, Р- селектинов, ICAM-1, VCAM-1) параллельно с реакциями интерфазного хроматина лимфоцитов. Последние изучены с помощью TV морфоденситометрии (ДиаМорф, Россия) для количественного анализа состояния хроматина лимфоцитов на мазках крови, специально окрашенных для изучения ДНК.

В настоящем исследовании представлено два теста: анализ параметров интерфазного хроматина лимфоцитов на процессы свертывания крови (инкубация образца при 37°C в течение 6 часов) и высокое напряжение сдвига (скорость сдвига 100с⁻¹, также 6 часов инкубации в аналогичных условиях).

По параметрам площади ядра и оптической плотности лимфоциты были разделены на следующие субпопуляции: «средние» и «малые». Эпигенетические эффекты, связанные с изменением экспрессии генов, могут, с помощью данного метода, описываться четырьмя компонентами хроматина в зависимости от его активности: две компоненты (q1 и q2) представляют собой гетерохроматин и перигранулярную зону, остальные две (q3 и q4)- эухроматин.

В настоящем исследовании учитывались классические морфологические и оптические параметры интерфазного хроматина: площадь, периметр, оптическая и интегральная оптическая плотность и ряд других параметров для всех четырех компонент.

Нами проведен сравнительный и корреляционный анализ изменений МДМ параметров интерфазного хроматина лимфоцитов, уровней цитокинов и рМКА в обоих предложенных тестах по сравнению с исходными значениями методами параметрической и непараметрической статистики.

Результаты и их обсуждение

В реологическом тесте мы не получили статистически значимых изменений ядер лимфоцитов в целом, за исключением роста соотношения гетеро- и эухроматина (0.52 ± 0.04 и 0.72 ± 0.07 , $p < 0.05$). Доля наиболее неактивного гетерохроматина оказалась повышенной и имела более

компактный вид, тогда как эухроматиновая часть ядер характеризовалась снижением дисперсности с повышением контрастности ($p < 0.05$).

После свертывания крови, МДМ параметры указывали на существенные перестройки, касающиеся ядра лимфоцитов в целом. Это заключалось в существенных изменениях классических морфометрически и оптических показателей: при повышении контрастности и оптической плотности ядер выявлено существенное снижение значений их площади и периметра. Соотношение гетеро-и эухроматина возросло более, чем в 2 раза ($p < 0.00001$).

Создается впечатление, что ядро лимфоцита становится более компактным и менее активным, либо в результате инактивации, либо могут расцениваться как проапоптотические изменения (что требует дополнительных доказательств). Некоторые изменения эухроматиновой компоненты ядра: снижение доли наиболее активной части хроматина, увеличение его компактности и гетерогенности.

Как показано ранее, реологический стресс приводит к снижению уровней Е- и Р- селектинов. Результаты проведения этого теста показали тесную связь между уровнем Е-селектина и активностью перигранулярной (q_2) зоны: (q_2 $r = -0.667$, $p = 0.011$; $area$ q_2 $r = -0.74$, $p = 0.008$, оптическая и интегральная оптическая плотность $p < 0.05$). Таким образом, нельзя исключить участие лимфоцитов в этом процессе, не связанное с синтезом и/или секрецией этих рМКА (такое влияние может быть связано с интернализацией или другими механизмами внутриклеточной коммуникации, что требует дополнительных подтверждений).

В то же время, следует отметить, что концентрации IL-6 и IL10 оказались тесно связанными с МДМ параметрами лимфоцитов после свертывания крови. Эти данные указывают на возможную роль синтеза и секреции этих цитокинов лимфоцитами. Некоторые данные, в частности, изменения концентрации IL-8, также связаны с изменением МДМ параметров лимфоцитов в тесте со свертыванием крови.

Полученные результаты указывают на определенную роль лимфоцитов в реализации про-и противовоспалительных программ цитокинов и рМКА. Последние, в силу ряда особенностей, вероятно, сами являются цитокинами и, возможно, имеют секреторную природу. Проведенное исследование указывает на неоднозначный характер их взаимодействия и может указывать на включение иных уровней межклеточных взаимодействий, отличный от прямой секреции или синтеза лимфоцитами. В этом плане, исследование роли других форменных элементов, в частности, нейтрофильных гранулоцитов, должно представлять определенный интерес.

Литература

1. A.I. Teplyakov, E.V. Pryshepova, N.G. Kruchinsky, T.I. Chegerova Cytokines and Soluble Cell Adhesion Molecules Possible Markers of Inflammatory Response in Atherosclerosis //Ann. NY Acad of Sci.- V.902.- 2000.-P.320-322.
2. N. A. Nicola. Guidebook to Cytokines and Their Receptors..-Oxford University Press.-1997.-P.261.
3. T. Lusher, M Barton. Biology of Endothelium //Clin. Cardiol.- V.20.- 1997. - P.3-10.

**РАСТВОРИМЫЕ МОЛЕКУЛЫ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ (рМКА)
ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
И ЦИТОКИНЫ - МАРКЕРЫ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ
ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ**

Тепляков А.И.

***НИИ экологической и профессиональной патологии МЗ РБ,
г. Могилев***

Введение

Согласно одной из наших гипотез, нарушение межклеточных взаимодействий представляет собой один из ключевых патогенетических механизмов атеросклероза. Благодаря накопленным данным, в настоящее время большинство общепатологических процессов может рассматриваться с новых позиций как нарушение «привычных» межклеточных взаимодействий [1], которые реализуются посредством основных четырех классов веществ: МКА, цитокинов, межклеточного матрикса и онкогенов [2]. В то же время, ряд МКА имеют эндотелиальное происхождение, что позволяет рассматривать их в качестве показателей эндотелиальной дисфункции при такой распространенной патологии как атеросклеротическое поражение артерий [3].

Целью настоящей работы явился сравнительный анализ изменения содержания цитокинов, рМКА после моделирования тромбообразования (свертывание крови) и стенозирующего поражения артерий (вискозиметрические течения при высоких напряжениях сдвига) для оценки состояния изменения цитокиновой сети и клеточной координационной коммуникации.

Материалы и методы исследования

Объектом настоящего исследования послужили 29 пациентов с верифицированным атеросклеротическим изменением магистральных арте-